

KITIN DARI CANGKANG RAJUNGAN YANG DIPEROLEH SECARA ENZIMATIK PADA TAHAP DEPROTEINASI

CHITIN FROM SHELLS OF CRAB ENZIMATICALLY ON DEPROTEINATION

Istiva Ameilia and Nuniek Herdyastuti*

*Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences
State University of Surabaya
Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761*

**Corresponding author, email: istivaamelia@gmail.com*

Abstrak. Kitin dapat diisolasi dari cangkang rajungan melalui tahap demineralisasi dan deproteinasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan kitin dan enzim yang optimum dalam menghidrolisis protein pada kitin. Penentuan perbandingan kitin dan enzim dilakukan dengan cara memvariasikan enzim dan kitin yang digunakan. Jumlah protein yang terhidrolisis ditentukan dengan menggunakan metode Kjeldahl. Kitin yang diperoleh berwarna putih. Perbandingan enzim dan kitin yang optimum adalah 1:10 (b/v) dengan kadar N-total sebesar 3,02%. Kitin yang diperoleh menunjukkan gugus fungsi O-H, N-H, C-H, C-N, C=O, C-O.

Kata Kunci: Kitin, Kadar N-total, deproteinasi

Abstract. Chitin can be isolated from the shells of crabs through the demineralization and deproteination. The aim of this experiment were to know the optimum of chitin and enzyme ratio to hrdolyze proteins on chitin. Determination the optimum of chitin and enzyme ratio was done at variation of chitin and enzymes ratio that used. Analysis of protein concentration is done by using the Kjeldahl method. The result showed that the optimum ratio of chitin and enzyme is 1:10 (w/v) with N-total is 3,02%. Chitin obtained showed the functional groups O-H, N-H, C-H, C-N, C = O, C-O.

Key words: Chitin, N-total concentration, deproteination

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara perairan yang menjadi salah satu negara pengekspor produk olahan hasil perikanan. Salah satunya adalah hasil olahan dari rajungan yang merupakan komoditi ekspor unggulan Indonesia. Saat ini rajungan menempati peringkat ketiga sampai keempat dari total nilai ekspor produk perikanan Indonesia setelah udang (46%), tuna (14%) dan rumput laut. Ekspor komoditas perikanan rajungan menyumbang lebih dari US\$260 juta/tahun dengan volume 30.000 ton/tahun. Proses pengolahan rajungan yang menghasilkan produk berupa rajungan yang sudah dimasak, dan daging rajungan kaleng, sehingga menghasilkan limbah padat berupa cangkang. Cangkang rajungan mengandung mineral yang tinggi, terutama kalsium (19,97%), fosfor (1,81%) dan kitin (20 – 30%) [1]. Hal tersebut menyebabkan

cangkang rajungan mulai dimanfaatkan untuk bahan campuran dalam pembuatan kosmetik, bahan pengawet, makanan hewan ternak, petis, terasi, tepung, dan berpotensi untuk menghasilkan kitin.

Kitin merupakan polimer yang tersusun atas monomer N-asetilglukosamin yang terikat melalui ikatan $\beta(1-4)$. Kitin merupakan jenis polisakarida yang terbanyak setelah selulosa [2]. Kitin merupakan senyawa penyusun kerangka hewan, seperti pada golongan anthropoda, molusca, nematoda, dan beberapa fungi [3]. Kitin merupakan zat padat berbentuk amorf yang tidak larut dalam air, asam encer tetapi larut dalam asam-asam mineral pekat. Asam mineral dalam konsentrasi yang tinggi dapat mendegradasi kitin menjadi senyawa yang lebih sederhana. Keberadaan kitin di alam tidak dalam keadaan bebas, melainkan berikatan dengan beberapa komponen seperti mineral, protein, dan

berbagai macam pigmen. Saat ini, pemanfaatan kitin telah meluas di berbagai bidang, seperti bidang industri, kesehatan, pertanian, dan pangan. Pemanfaatan kitin di bidang industri antara lain sebagai koagulan polielektrolit pengolahan limbah cair. Di bidang kesehatan, kitin digunakan untuk mencegah pertumbuhan *Candida albicans* dan *Staphylococcus aureus*. Di bidang pertanian dan pangan, kitin telah banyak digunakan untuk pencampur rasum pakan ternak, antimikroba, antijamur. Pemanfaatannya yang meluas menyebabkan isolasi kitin semakin potensial.

Kitin dapat diisolasi menggunakan dua cara yaitu secara kimiawi dan enzimatis, yang melalui tahapan demineralisasi, deproteinasi, dan dekolorisasi untuk menghilangkan warna pada kitin [4]. Tahap demineralisasi bertujuan untuk menghilangkan mineral yang terkandung dalam cangkang rajungan. Mineral yang paling banyak terkandung di dalam cangkang adalah kalsium karbonat serta mineral magnesium karbonat yang terdapat dalam jumlah kecil. Kandungan mineral yang besar dalam cangkang dapat menyebabkan kecilnya daya serap apabila dimanfaatkan lebih lanjut. Tahap deproteinasi bertujuan untuk memutuskan protein yang terikat pada kitin. Protein yang terdapat pada kitin dapat mempercepat tumbuhnya mikroorganisme pembusuk. Dengan begitu, tahapan deproteinasi dapat memperpanjang masa simpan kitin.

Isolasi kitin secara kimiawi dilakukan dengan menggunakan larutan alkali dengan suhu yang cukup tinggi, namun cara ini dapat menyebabkan hilangnya gugus asetil (deasetilasi) pada kitin. Alternatif untuk mengatasi masalah tersebut yaitu dengan isolasi kitin secara enzimatis yang memanfaatkan enzim protease. Protease merupakan enzim yang digunakan untuk memutuskan ikatan protein pada kitin [5]. Salah satu enzim yang dapat digunakan untuk tahap deproteinasi adalah enzim bromelin.

Bromelin merupakan enzim endopeptidase yang mempunyai gugus sulfhidril pada sisi aktifnya. Enzim ini mendegradasi protein dengan cara memutuskan ikatan peptida menghasilkan senyawa yang lebih sederhana. Nanas merupakan sumber protease yang tinggi, terlebih lagi dalam buah yang masak. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya konsentrasi enzim. Konsentrasi enzim sebanding dengan kecepatan reaksinya, jika konsentrasi enzim dinaikkan maka kecepatan reaksinya akan meningkat [6]. Konsentrasi enzim yang tinggi dapat menyebabkan kemampuan enzim untuk mendegradasi substrat semakin optimal.

Pada proses deproteinasi diperlukan perbandingan kitin dan enzim yang optimum

sehingga dapat dihasilkan kadar N-total yang rendah, yang artinya semakin banyak protein yang terhidrolisis dari kitin. Hasil penelitian Martati (2012) perbandingan cangkang dengan pelarut yang digunakan dalam tahap deproteinasi adalah 1:10 (b/v) sedangkan berdasarkan hasil penelitian Angelita (2015) diperoleh perbandingan optimum sebesar 1:6 (b/v). Penelitian ini mengenai deproteinasi cangkang rajungan dengan memanfaatkan enzim bromelin sebagai sumber protease dengan variasi perbandingan kitin dan enzim. Penelitian ini diharapkan lebih efektif dalam menghilangkan kandungan protein pada cangkang rajungan.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium, *Hot plate stirrer*, neraca analitik, oven, tanur, seperangkat alat Kjeldhal (merk Butchi), FTIR (merk PerkinElmer Version 10.03.06).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah cangkang rajungan Desa Lohgung, HCl (Merck), H₂SO₄ (Merck), NaOH (Merck), NaOCl (Merck), aquademin, asam borat (Merck), buah nanas, tablet Kjeldahl, indikator PP, indikator brom kresol green, indikator metil merah.

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Sampel

Cangkang rajungan bagian karapas dibersihkan kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Cangkang selanjutnya diblender sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ukuran 100 mesh.

1. Isolasi Kitin

Demineralisasi

Serbuk cangkang rajungan ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian dilarutkan dalam HCl 1 N dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran distirer selama 1 jam pada suhu 75 °C. Campuran disaring dan residu yang diperoleh dicuci dengan menggunakan aquademin sampai pH netral. Residu dioven pada suhu 80 °C sampai beratnya konstan.

Deproteinasi

Serbuk cangkang hasil demineralisasi dilarutkan ke dalam enzim bromelin dengan perbandingan 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 (b/v) dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu 50 °C. Campuran disaring dan residu yang diperoleh dicuci dengan

aquademin sampai pH netral, kemudian residu dioven pada suhu 80 °C sampai beratnya konstan.

Dekolorisasi

Kitin dilarutkan dalam NaOCl 0,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Campuran distirer selama 1 jam pada suhu 75 °C. Campuran disaring dan residu yang diperoleh dicuci dengan menggunakan aquademin sampai pH netral, kemudian residu dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C sampai beratnya konstan. Gugus fungsi kitin diidentifikasi dengan menggunakan FTIR.

2. Analisis Kadar N-total dengan Metode Kjeldahl

Kitin sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam labu Kjeldhal kemudian ditambahkan 1 tablet Kjeldahl serta 35 ml H₂SO₄ pekat. Campuran didestruksi sampai larutan jernih. Larutan lalu didinginkan dan ditambahkan 200 ml aquades. Campuran yang telah dingin ditambahkan indikator PP serta NaOH 32% sampai larutan bersifat basa, kemudian campuran didestilasi. Destilat yang diperoleh ditambahkan 25 ml asam borat 2% serta 3 tetes campuran indikator brom kresol green dan metil merah. Campuran dititrasi dengan larutan standar HCl 0,1 N sampai warna merah jambu. Hal yang sama juga dilakukan terhadap blanko. Kadar N-total dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\%N\text{-total} = [(V_{\text{HCl}} \times N_{\text{HCl}} \times \text{BM}_N) / \text{bobot sampel}] \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Cangkang rajungan mengandung sekitar 20-30% senyawa kitin, 40-50% mineral dan 21% protein. Keberadaan kitin di alam tidak ditemukan dalam keadaan bebas, akan tetapi berikatan dengan mineral, protein serta berbagai macam pigmen [1]. Tahap awal yang dilakukan sebelum isolasi kitin yaitu preparasi cangkang rajungan yang meliputi pengeringan, penghalusan, dan pengayakan dengan ukuran 100 mesh, seperti terlihat pada Gambar 1.



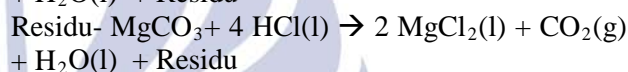
Gambar 1. (a) Cangkang Rajungan (b) Serbuk Cangkang Ukuran 100 mesh

Setelah tahap preparasi, selanjutnya serbuk cangkang tersebut diisolasi kitinnya melalui beberapa tahapan yang meliputi demineralisasi,

deproteinasi, serta dekolonisasi untuk menghilangkan pigmen pada kitin yang diperoleh.

Demineralisasi

Proses ini bertujuan untuk melepaskan mineral. Demineralisasi dilakukan dengan penambahan asam klorida 1 N yang disertai dengan pemanasan. Konsentrasi asam klorida lebih dari 4 N dapat menyebabkan kelebihan asam yang tidak bereaksi dengan mineral, hal ini mengakibatkan degradasi pada kitin [9]. Proses pemisahan mineral dari cangkang ditunjukkan dengan terbentuknya gas CO₂. Hal ini ditandai dengan terbentuknya gelembung udara saat penambahan asam, sehingga penambahan asam klorida dilakukan secara bertahap agar sampel tidak meluap. Peluapan sampel juga dapat dihindari dengan proses pengadukan. Reaksi yang terjadi saat penambahan asam klorida adalah [2]:



Pemisahan campuran dilakukan dengan penyaringan yang menghasilkan filtrat dan residu. Penghilangan sisa asam klorida pada residu dilakukan dengan proses pencucian hingga pH netral, hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya degradasi kitin pada proses pengeringan.

Hasil dari proses demineralisasi diperoleh sebanyak 45,89% dari total serbuk cangkang yang digunakan.

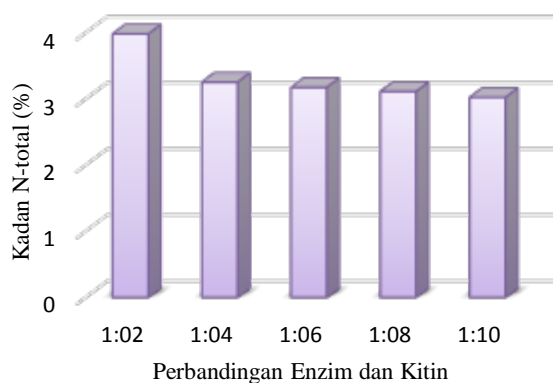
Deproteinasi

Proses ini bertujuan untuk melepaskan protein yang terikat pada kitin. Hal ini dikarenakan kandungan protein pada kitin dapat mempercepat tumbuhnya mikroorganisme pembusuk. Proses pemisahan protein pada kitin dapat dilakukan secara kimiawi dan enzimatis. Deproteinasi secara kimiawi dilakukan dengan penambahan larutan alkali pada suhu yang cukup tinggi, namun cara ini dapat menyebabkan hilangnya gugus asetil (deasetilasi) pada kitin. Alternatif untuk mengatasi masalah tersebut yaitu dengan pemisahan protein secara enzimatis yang memanfaatkan enzim protease, seperti enzim bromelin dari buah nenas.

Inkubasi dilakukan pada suhu 50 °C yang merupakan suhu optimum enzim bromelin. Hasil uji kadar N-total pada proses deproteinasi ditunjukkan pada Gambar 1. Semakin banyak penambahan enzim bromelin, maka kadar N-total semakin rendah yang artinya semakin banyak jumlah protein yang terhidrolisis dari kitin. Hal ini dikarenakan semakin banyak penambahan enzim bromelin akan

mempercepat pemutusan senyawa protein pada kitin. Konsentrasi enzim berbanding lurus dengan kecepatan reaksi, jika konsentrasi enzim dinaikkan maka substrat yang terikat juga semakin banyak, dengan begitu kecepatan reaksinya akan bertambah [5]. Pada konsentrasi enzim yang rendah tidak semua substrat terikat pada enzim sehingga aktivitas enzim menurun. Perbandingan enzim dan kitin yang optimum adalah 1:10. Hal ini ditunjukkan dengan hasil kadar N-total yang paling rendah yaitu sebesar 3,02%.

Dari proses deproteinasi, diperoleh serbuk cangkang sebesar 38,15% dari total serbuk cangkang yang digunakan.



Gambar 2. Kadar N-total Kitin dengan Variasi Perbandingan Enzim dan Kitin

Kitin yang diperoleh berwarna kecoklatan seperti terlihat pada Gambar 3. Untuk memperoleh penampakan kitin yang lebih menarik, dilakukan tahapan untuk menghilangkan warna pada kitin.

Dekolorisasi

Proses dekolourisasi bertujuan untuk menghilangkan warna pada kitin. Warna merupakan salah satu parameter fisik yang penting karena menjadi pertimbangan pertama dalam pemilihan suatu produk. Salah satu reagen yang dapat digunakan dalam proses dekolourisasi yaitu natrium hipoklorit. Penggunaan natrium hipoklorit mempunyai kelebihan diantaranya mudah diperoleh dan pada pelaksanaannya tidak diperlukan proses lebih lanjut karena sisa-sisa natrium hipoklorit mudah dihilangkan dengan pencucian. Hasil penghilangan warna dengan natrium hipoklorit ditunjukkan pada Gambar 3.

Rendemen kitin yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 37,94%. Hasil ini lebih besar dibandingkan dengan rendemen kitin yang diperoleh Padang (2016) dan Martati dkk (2012),

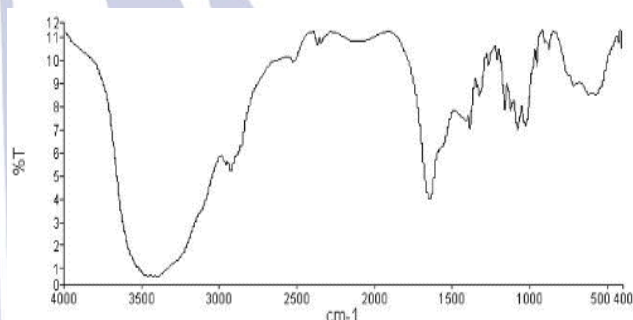
yang masing-masing memperoleh rendemen sebesar 32,52% dan 14,67%.



Gambar 3. Kitin (a) Sebelum Dekolorisasi (b) Sesudah Dekolorisasi

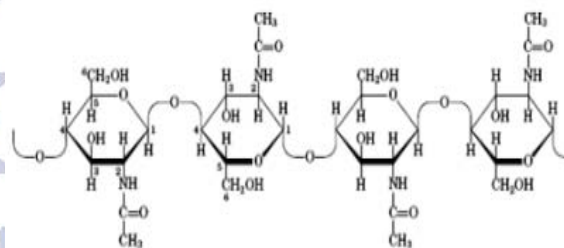
Analisis Gugus Fungsi

Uji spektroskopi FTIR menghasilkan spektra inframerah seperti pada Gambar 4 dan Tabel 1.



Gambar 4. Hasil Serapan FTIR Kitin

Berdasarkan hasil spektra tersebut menunjukkan bahwa kitin mempunyai serapan yang menunjukkan adanya gugus fungsi O-H, N-H, C=O, C-N, C-O, dan C-H.



Gambar 5. Struktur kitin

Kitin merupakan polimer dari N-asetilglukosamin yang mempunyai gugus fungsi seperti pada Gambar 5.

Spektrum hasil analisis FTIR kitin pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kitin hasil isolasi mengandung gugus fungsi utama yang terdapat pada senyawa kitin. Spesifikasi gugus fungsi menentukan kereaktifan suatu senyawa yang sangat penting apabila diaplikasikan di berbagai bidang, seperti bidang bioteknologi.

Tabel 1. Hasil Analisis FTIR Kitin Hasil Isolasi

Sampel	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Gugus fungsi	Rentang bilangan gelombang (cm ⁻¹)
Kitin	3435,89	O-H	3750-3000
	3435,89	N-H	3750-3000
	2928,88	C-H	3000-2700
	1156,68	C-N	1380-1080
	1638,21	C=O	1900-1650
	1074,19	C-O	1300-1000

10. Padang, A. R., Natsir, Hasnah., Dali, Seniwati. 2016. Optimalisasi Proses Isolasi Kitin dari Cangkang Kepiting Rajungan (*Portunus pelagicus*) pada Tahap Demineralisasi. Makassar: Universitas Hasanuddin.

KESIMPULAN

Proses enzimatik pada tahap deproteinasi menunjukkan hasil yang optimal pada isolasi kitin karena enzim bersifat spesifik dan dapat menghindari putusya gugus fungsi (deasetilasi) pada kitin.

DAFTAR PUSTAKA

- Asosiasi Pengelolaan Rajungan Indonesia. 2012. Ekspor Rajungan Ketiga Terbesar setelah Udang & Tuna, Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. *Online*. (<http://www.kemendag.go.id>, diakses pada tanggal 23 Februari 2016).
- Arif, A.R., Ischaidar, Natsir, H., Dali, S. 2013. Isolasi Kitin dari Limbah Udang Putih (*Penaeus merguensis*) Secara Enzimatis. *Semnas*. 11-16.
- Halizah, W. dan Suhartono M.T. 2012. Karakteristik Kitinase dari Mikrobial. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*. 8(1).
- Harding, D. and Sashiwa, H. 2015. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. *Mar Drug*. 13(3):1134-1174.
- Supartono. 2004. Karakterisasi Enzim Protease Netral dari Buah Nenas Segar. *Jurnal MIPA*. 27 (2): 134-142.
- Wuryanti. 2006. Amobilisasi Enzim Bromelin dari Bonggol Nanas dengan Bahan Pendukung (*Support*) Karagenan dari Rumpun Laut (*Euchema cottonii*). *JSKA*. 9 (3).
- Angelita, D. R. 2015. *Chitin and Chitosan*. Semarang: Universitas Katolik Soegijapranata.
- Martati, T. S., Yuniarta, Ulifah, I. A. 2012. Isolasi Kitin Dari Cangkang Rajungan (*Portunus Pelagicus*). Kajian Suhu Dan Waktu Proses Deproteinasi. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 3: 129-137.
- Pratiwi, I. F., dan Herdyastuti, N. 2016. Penentuan Kondisi Optimum pada Pembentukan Senyawa N-Asetil-D-Glukosamin Hasil Hidrolisis Kitin Non Enzimatis. *UNESA Journal of Chemistry*. 5 (3):13-17